

На правах рукописи

ИЛЬИНЫХ ТАТЬЯНА ЮРЬЕВНА

**СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЛИЯНИЯ
СЕЛЕНА И АЛЬФА - ТОКОФЕРОЛА
НА СОСТОЯНИЕ ЛИПИДПЕРОКСИДАЦИИ КРОВИ
В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ
АБДОМИНАЛЬНЫМ СЕПСИСОМ**

03.01.04 – биохимия

Автореферат
диссертации на соискание ученой
степени кандидата биологических наук

Казань – 2012

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении
высшего профессионального образования
«Тюменская государственная медицинская академия»
Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биохимии
Галян Сергей Леонидович

Официальные оппоненты: **Камилов Феликс Хусаинович**, доктор медицинских наук, профессор, ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития Российской Федерации, заведующий кафедрой биохимии, академик АН Башкортостана

Ганеева Лилия Ахатовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник кафедры биохимии, ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет

Ведущая организация: ГБОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, г. Челябинск

Защита диссертации состоится « 31 » мая 2012 в 13-00 часов на заседании диссертационного совета Д.212.081.08 при ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» по адресу: 420008. г. Казань, ул. Кремлевская, 18.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке им. Н.И. Лобачевского ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» по адресу: г. Казань, ул. Кремлевская, 35.

Автореферат разослан 27 апреля 2012 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета:

доктор биологических наук, профессор



З.И. Абрамова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Летальность при тяжелом сепсисе и септическом шоке составляет от 20 до 70% в зависимости от тяжести развивающихся осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, дыхательной системы, печени [Гельфанд Е.Б. и соавт., 2000; Келина Н.Ю. и соавт., 2002; Плоткин Л.Л., 2007; Мухачева С.Ю. и соавт., 2005]. У больных сепсисом формируется синдром гиперметаболизма-гиперкатаболизма с выраженным возрастанием потребностей в белково-энергетических субстратах, снижением иммунного статуса [Гельфанд Е.Б. и соавт., 2000; Илюкевич Г.В. и соавт., 2002; Руднов В.А. и соавт., 2008; Щербакова Л.Н. и соавт., 2008]. Медиаторы воспалительного ответа поступают в системный кровоток и вызывают расстройство общего кровообращения, что приводит к нарушению микроциркуляции органов и тканей, функционального состояния печени [Илюкевич Г.В., 1999; Зеленский А.А. и соавт., 2008].

Среди основных повреждающих факторов у больных сепсисом следует в первую очередь выделить эндогенную интоксикацию и окислительный стресс, сопряженные дезактивацией компонентов антиоксидантной защиты в клетке. Для коррекции метаболических нарушений предлагается исследование динамики биохимических показателей, касающихся обмена и окислительной модификации как липидов, так и белков, содержания антиоксидантов и прооксидантов, чаще всего в плазме крови в силу ее большей доступности для анализа [Wayner D.M. et. al., 1987; Condon M. et. al., 2003; Мороз В.В. и соавт., 2004; Пасечник И.Н., 2004; Щербакова Л.Н. и соавт., 2003; Matthias W.A. et. al., 2007].

Оценка состояния системы липидпероксидации (ЛПО) и антиоксидантной защиты (АОЗ) в данных исследованиях проводилась в крайне разнородных группах больных по тяжести инфекционного процесса, в связи с этим не была изучена взаимосвязь тяжести сепсиса и уровня антиокислительной активности [Graff, J. et. al., 2000; Sakr Y. et al., 2007; Цветков Д.С., 2008]. При этом приводятся противоречивые данные о снижении летальности, частоте развития осложнений, уменьшении длительности госпитализации как результат применения фармаконутриентов в интенсивной терапии тяжелого сепсиса и септического шока, в том числе альфа-токоферола (α -ТФ) и селена [Ascherio A., 2000; Aird W., 2003; Angstwurn M. et. al., 2006 Юдакова О.В., 2006]. В ряде исследований показана достоверно низкая концентрация селена в плазме крови у больных сепсисом, восполнение которой способствовало снижению частоты острой почечной недостаточности и летальности [Юдакова О. В., 2006; Aird W. et. al., 2003; Sakr Y. et. al., 2007]. В тоже время другими авторами не выявлено влияния дополнительного введения селена на исход заболевания [Цветков Д.С., 2008].

Эффективность применения лекарственных препаратов, в том числе и антиоксидантов, во многом зависит от мониторинга показателей окислительного стресса в ходе лечения, индивидуального подбора препарата и его дозировки, способа введения, возможности синергизма или антагонизма компонентов интенсивной терапии, учета состояния собственной антиоксидантной активности крови пациента [Богатов Н.В., 2007; Бурлакова Е.Б., 2005; Иноятова Ф.И. и со-

авт., 1999; Звягин А.А. и соавт., 2007; Галян С.Л. и соавт., 2008, 2010]. Между тем, выполненные на сегодняшний день немногочисленные клинические и экспериментальные исследования не позволяют сделать заключение о целесообразности применения в комплексе терапии тяжелых форм абдоминального сепсиса (АС) фармаконутриентов с антиоксидантным действием, что и определяет актуальность предпринятого исследования.

Цель исследования. Оценка эффективности воздействия экзогенных антиоксидантов альфа-токоферола и селена на состояние системы ЛПО-АОЗ и спектр липидов эритроцитов и плазмы крови у больных тяжелыми формами абдоминального сепсиса на фоне стандартной интенсивной терапии, дополненной питательными смесями.

Задачи исследования:

1. Исследовать сдвиги в системе ЛПО-АОЗ и обмене липидов эритроцитов и плазмы крови больных АС в условиях стандартного протокола интенсивной терапии, включающего широкий спектр питательных смесей, и определить их взаимосвязь с выраженностью клинических проявлений.
2. Изучить особенности окислительного метаболизма липидов эритроцитов и плазмы крови больных АС в условиях стандартного протокола интенсивной терапии, дополненного α -ТФ, определить взаимосвязь показателей ЛПО-АОЗ и состава липидов с выраженностью клинических признаков.
3. Определить характерные особенности метаболических изменений в системе ЛПО-АОЗ и обмене липидов эритроцитов и плазмы крови больных АС в условиях стандартного протокола интенсивной терапии, дополненного селеном, и определить взаимосвязь с выраженностью клинических признаков.
4. Оценить активность ферментативного звена антиоксидантной защиты в эритроцитах больных АС в зависимости от протокола интенсивной терапии.
5. Провести сравнительный анализ окислительной стабильности мембранных и плазматических липидов у больных АС в зависимости от протокола интенсивной терапии, выявить диагностические возможности показателей окислительного метаболизма липидов в оценке эффективности проводимой интенсивной терапии.

Положения, выносимые на защиту:

1. Окислительный метаболизм липидов эритроцитов и плазмы крови больных абдоминальным сепсисом характеризуется разнонаправленной динамикой показателей ЛПО-АОЗ и состава липидов, выраженность которых зависит от протокола проводимой интенсивной терапии.
2. Различия в эффективности составляющих компонентов интенсивной терапии проявляются на 3-и сутки, далее усиливаются и имеют наиболее стабилизирующие изменения в липидах эритроцитов, затем плазмы крови, вне зависимости от протокола интенсивной терапии.
3. Окислительный метаболизм липидов можно уменьшить путем введения в протокол интенсивной терапии фармаконутриентов, антиоксидантный и мембранотропный эффект которых более выражен в условиях интенсивной терапии, дополненной селеном, в сравнение α -ТФ и стандартной терапией.

Научная новизна исследования. Впервые проведен динамический анализ состояния системы ЛПО-АОЗ и обмена липидов в эритроцитах и плазме крови больных тяжелыми формами АС в условиях стандартной терапии, включающей широкий спектр питательных смесей, а также дополненной фармаконутриентами антиоксидантного действия – α -ТФ и селеном. Показано, что наиболее стабилизирующие изменения характерны для липидов эритроцитов, затем плазмы крови, вне зависимости от протокола интенсивной терапии.

Впервые установлена взаимосвязь показателей системы ЛПО-АОЗ, обмена липидов эритроцитов и плазмы крови с выраженностью клинических параметров у больных абдоминальным сепсисом, позволяющая конкретизировать группу пациентов, нуждающихся в соответствующей терапии.

Впервые показано, что дополнение α -ТФ (в дозе 600 мкг/сутки) стандартной интенсивной терапии у больных с тяжелыми формами АС не является достаточным, для существенной оптимизации процесса интенсивной терапии в течение 5-ти суток в ОРИТ. Включение селена (в дозе 300 мкг/сутки) в протокол стандартной интенсивной терапии у больных с тяжелыми формами АС в течение 5-ти суток, позволило выявить позитивные сдвиги в системе ЛПО-АОЗ эритроцитов и плазмы крови. Стабилизация показателей окислительного метаболизма липидов сопровождалась снижением общей тяжести состояния (в 1,3 раза по оценочной шкале SOFA) и, как следствие, уменьшением сроков пребывания в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) на 29,2%; $p < 0,05$, в сравнение со стандартной терапией.

Выявленные метаболические изменения показателей системы ЛПО-АОЗ и состава фракций липидов эритроцитов и плазмы крови больных АС, позволяют оценить эффективность проводимой интенсивной терапии, а также прогнозировать исход лечения.

Научно - практическая значимость работы, внедрение результатов исследования. Полученные результаты показали взаимосвязь выраженности клинических параметров и уровня антиокислительной активности липидов эритроцитов и плазмы крови у больных абдоминальным сепсисом, что определяет необходимость включения антиоксидантов в протокол стандартной интенсивной терапии с целью ее оптимизации.

Результаты исследования обращают внимание практикующих врачей на диагностические возможности показателей системы ЛПО-АОЗ для динамического контроля патологического процесса и эффективности проводимой интенсивной терапии у больных абдоминальным сепсисом.

Полученные данные использованы при подготовке кафедрой биологической химии ГБОУ ВПО ТюмГМА книги «Окислительный метаболизм липидов крови при критических состояниях» (Тюмень: 000 «Печатник», 2008.- 87 с).

По материалам исследования подготовлены и опубликованы методические рекомендации: «Анализ состояния системы липидпероксидации и антиоксидантной защиты крови при критических состояниях» (Тюмень, 2008.- 70 с); «Анализ эффективности использования эндогенных антиоксидантов в комплексной терапии сепсиса по результатам биохимического анализа крови» (Тюмень, 2008.- 29 с).

Результаты исследования апробированы и внедрены в практическую работу ОРИТ. Комплексный анализ состояния системы ЛПО-АОЗ клетки включены в рекомендательный протокол лечения больных при критических состояниях в отделения реанимации и интенсивной терапии ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница №1» (2 акта внедрения), ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница №2» (2 акта внедрения).

Полученные данные внедрены в учебный процесс кафедр биологической химии, аналитической и органической химии ГБОУ ВПО Тюменской государственной медицинской академии Минздравсоцразвития России (2 акта внедрения).

Апробация работы. Материалы исследований представлены и обсуждены на общем заседании кафедр биохимии, гигиены, патофизиологии, технологии лекарственных форм, аналитической и органической химии ГБОУ ВПО ТюмГМА Минздравсоцразвития России (Тюмень, 2012); Международном симпозиуме «Медицина и охрана здоровья» (Тюмень, 2001); Международном форуме «Аналитика и Аналитики» (Воронеж, 2003); IV Межрегиональной научно – практической конференции «Фармация XXI века» (Новосибирск, 2004); Всероссийской научно-методической конференции «Интеграция науки и образовательного процесса» (Воронеж, 2007); Региональной научно – практической конференции «Фармация и общественное здоровье» (Екатеринбург, 2009); Конгрессе терапевтов «Урал-2009» (Тюмень, 2009); Всероссийской конференции студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы теоретической, экспериментальной и клинической медицины» (Тюмень, 2006; 2008; 2011); IX и X Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы клиники, диагностики и лечения в многопрофильном лечебном учреждении» (Санкт-Петербург, 2009; 2011), V и VI съезде ассоциации анестезиологов-реаниматологов северо-запада России (Санкт-Петербург, 2009; 2011).

Публикации по теме диссертации. Опубликовано 18 научных работ, из них 2 в изданиях рекомендованных перечнем ВАК, в книге «Окислительный метаболизм липидов крови при критических состояниях» (Тюмень: 000 Печатник», 2008, 87 с).

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 130 страницах машинописи и содержит введение и главы - обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение результатов и заключение, а также выводы, практические рекомендации. Работа представлена 18 таблицами и иллюстрирована 24 рисунками. Список литературы включает 265 источников, среди которых 177 отечественных и 88 зарубежных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объем проведенных исследований. Работа основана на изучении результатов проспективного контролируемого нерандомизированного исследования в ходе интенсивной терапии и анализа течения патологического процесса у 112 больных (в возрасте $41,3 \pm 11,3$ года) с тяжелыми формами АС: 76 (67,8%) - с тяжелым сепсисом, 36 (32,2%) - с септическим шоком, после санации очага ин-

фекции, сопоставимых по возрасту, тяжести состояния по шкале APACHE II ($16,3 \pm 2,5$ баллов) [Knaus W.A. et. al., 1985], которые находились на лечении в ОРИТ ГБУЗ ТО ОКБ №2 г.Тюмени в 2004-2010 г.г. О развитии органно-системной дисфункции и степени ее тяжести судили по шкале SOFA [Vincent J.L. et. al., 1988]. Нозологическая структура АС представлена в таблице 1.

Таблица 1.

Распределение больных АС в зависимости от нозологической причины

Нозологическая причина	Число больных	
	абс.	%
Перфорация желудка и двенадцатиперстной кишки	19	16,9
Травматические повреждения органов брюшной полости	24	21,4
Кишечная непроходимость	10	8,9
Деструктивный аппендицит	16	14,3
Послеоперационный перитонит	19	17,0
Гнойно-воспалительные заболевания матки и придатков	24	21,5
Всего...	112	100

Клиническое и лабораторное обследование проводили по стандартным показателям при поступлении в ОРИТ на 1-е сутки. Пациентам всех групп выполнены исследования параметров, входящих в шкалы APACHE-II и SOFA.

Отбор пациентов в группы проводили на основании данных клинического обследования до операции, тестирования состояния системы ЛПО-АОЗ в эритроцитах, определяя показатели: СО, ПИ, ДК и ОЛ. Больные АС разделены на три группы, отличающиеся включением дополнительно в комплексную терапию 2-ой группы (n=36) - α -ТФ ("Эвитол", KRKA; 600 мг/сутки внутримышечно), 3-ей группы (n=39) - селенита натрия (**Selenase® 100**; 300 мг/сутки внутривенно), в сравнение с 1-ой группой (n=37). Оба препарата назначали на протяжении 5 дней. Исследования выполняли при поступлении больных в ОРИТ на 1-е, 3-и и 5-е сутки интенсивной терапии. В качестве группы сравнения обследованы практически здоровые доноры (n=25, в возрасте от 30 до 52 лет). Для анализа показателей ЛПО-АОЗ, состава фосфолипидов использовали субстрат одной липидной природы, полученный экстракцией липидов эритроцитов и плазмы крови смесью гептан/изопропиловый спирт (1:1). Для каждого пациента выполнено 72 исследования.

Определяли показатели ЛПО в гептановой фазе: содержание диеновых конъюгатов (ДК, мкМ/мл) устанавливали по оптической плотности ($\lambda = 232$ нм); антиоксидантную (ПИ, мин/мл) и радикальную активности липидов (СО, мм³/мин) проводили в процессе инициированного динитрилазобисизомазляной кислотой окисления липидов кислородом воздуха и по кинетической кривой зависимости поглощенного кислорода от времени выражали ПИ, как время поглощения пробой 25 мм³ кислорода, а СО - как угол наклона линейного участка кинетической кривой; концентрацию липидов (ОЛ, мг/мл) определяли по величине оптической плотности ($\lambda = 534$ нм), после реакции с фосфорнованилиновым реактивом [Ушкалова В.Н. и др., 1987]. Определение фракций ФЛ и ХС (мкМ/мл) в гептановой фазе проводили после хроматографического разделения

в тонком слое сорбента: ФЛ - по реакции неорганического фосфора с малахитовым зеленым ($\lambda = 260$ нм); ХС - по реакции с хлоридом железа (III) в кислой среде ($\lambda = 540$ нм) [Карпищенко В.С., 2002].

Активность компонентов АОЗ оценивали в гемолизате эритроцитов [Карпищенко В.С., 2002]: супероксиддисмутаза (SOD, усл.ед/мл эр.), оценивали по степени ингибирования реакции восстановления нитросинего тетразолия ($\lambda=540$ нм) в зависимости от процента ингибирования; глутатионпероксидазы (GSH-Px, мкМ/мл эр.) определяли по реакции окисления глутатиона с дитиобиснитробензойной кислотой ($\lambda=340$ нм); каталазы (КАТ, мкМ/мин · л) определяли по реакции с пероксидом водорода ($\lambda=260$ нм). Содержание α -ТФ (мкМ/л) проводили в гептановом растворе липидов по реакции восстановления железа (II) с о-фенантролином ($\lambda=505$ нм) [Карпищенко В.С., 2002].

Математическую обработку полученных количественных данных проводили с помощью медико-биологической программы Biostat 4.03 (С.А. Гланц, 1998) методом вариационной статистики для малых рядов наблюдений, вычисляя среднюю арифметическую (М), среднюю ошибку средней арифметической (m) и среднее квадратичное отклонение (σ). Достоверность отличий оценивали, вычисляя доверительный коэффициент Стьюдента (t) и степень вероятности (p). Взаимосвязи переменных анализировали методом ранговой корреляции Спирмена (r_s). Различия между сравниваемыми группами рассматривали как достоверные при $p<0,05$. Графический анализ результатов приводили в системе Microsoft Graf (приложение WS Word 2003), корректность которых характеризовали коэффициентами аппроксимации (R^2).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показателей ЛПО-АОЗ в эритроцитах и плазме крови больных АС в 1-е сутки стандартной интенсивной терапии характеризовались активацией окислительных процессов в сравнение с донорами. О чем свидетельствует в 1,5-1,7 ($p<0,01$) раза повышение содержания ДК, снижение СО на 65-72% ($p<0,01$) и содержания ОЛ на 25-37% ($p<0,05$), в сравнение с группой доноров. Указанный процесс сопровождается повышением ПИ в 6,2-7,8 раз ($p<0,001$) не зависимо от субстрата исследования. Выявленные нарушения в состоянии системы ЛПО-АОЗ у больных АС обусловлены, прежде всего, генерацией активных форм кислорода, интоксикацией, функциональной печеночной недостаточностью, т.е. угнетением собственных детоксикационных механизмов. В этих условиях кроме хирургической санации гнойного очага и проведением комплексной стандартной интенсивной терапии, важным фактором в повышение возможностей организма может быть использование нутритивной поддержки, включающей антиоксидантные препараты.

Динамика показателей системы ЛПО-АОЗ в эритроцитах больных АС при стандартной терапии и дополненной антиоксидантами. У больных АС на фоне стандартной интенсивной терапии к 3-м суткам установлено разнонаправленное изменение показателей системы ЛПО-АОЗ в эритроцитах, свидетельствующее о глубоких нарушениях в обмене липидов (табл. 2). Выявленная

динамика сохраняется и на 5-е сутки терапии в том же диапазоне значений, подтверждающих синдром гиперметаболизма. Свидетельством усиления липолиза из жировых депо и угнетением липогенеза в гепатоцитах является прогрессирующее снижение содержания ОЛ в эритроцитах на 30-35% ($p<0,05$) на этапах исследования. При этом выявлено разнонаправленное изменение показателей СО (увеличение ~ на 15%, $p<0,05$) и ПИ (уменьшение ~ на 20%, $p<0,05$), динамика которых отражает изменение жирнокислотного состава липидов, в сторону увеличения компонентов повышающих устойчивость липидов к окислению. На это однозначно указывает достоверное снижение содержания ДК (~ на 20%, $p<0,05$). Однако, изменения ЛПО не достигают значительной разницы в сравнение с первыми сутками и демонстрируют необходимость в дополнительной антиоксидантной терапии.

Таблица 2

Динамика показателей ЛПО-АОЗ эритроцитов, плазмы крови больных АС при стандартной терапии и дополненной α -ТФ или селеном ($M \pm m$)

Показатель	Ст. терапия (1-я группа)			Ст. терапия + ТФ (2-я группа)			Ст. терапия + Селен (3-я группа)		
	1 сутки	3 сутки	5 сутки	1 сутки	3 сутки	5 сутки	1 сутки	3 сутки	5 сутки
Эритроциты									
ДК	2,93 \pm 0,09	2,34 \pm $\pm 0,11^b$	1,88 \pm 0,09 ^c	2,73 \pm 0,09	2,24 \pm $\pm 0,11^a$	1,52 \pm 0,09 ^b	2,61 \pm 0,04	1,95 \pm 0,05 ^b	1,38 \pm 0,04 ^b
СО	0,33 \pm 0,03	0,38 \pm 0,05 ^a	0,43 \pm 0,03	0,38 \pm 0,03	0,28 \pm 0,05 ^b	0,23 \pm 0,03 ^a	0,42 \pm 0,06	0,32 \pm 0,08 ^b	0,19 \pm 0,06 ^b
ПИ	220,0 \pm 5,1	175,3 \pm 7,3 ^b	164,4 \pm 5,1 ^b	213,0 \pm 6,4	227,3 \pm 7,5	239,6 \pm 7,2 ^a	170,3 \pm 3,8	194,5 \pm 4,2 ^a	242,2 \pm 3,7 ^b
ОЛ	4,41 \pm 0,13	3,08 \pm 0,17 ^b	1,98 \pm 0,13 ^c	4,17 \pm 0,16	3,28 \pm 0,18 ^b	2,54 \pm 0,15 ^b	4,42 \pm 0,05	3,45 \pm 0,04 ^b	3,81 \pm 0,05
Плазма									
ДК	2,48 \pm 0,08	2,23 \pm 0,09 ^a	1,74 \pm 0,07 ^b	2,33 \pm 0,09	2,14 \pm 0,11	1,68 \pm 0,09 ^a	2,35 \pm 0,09	1,99 \pm 0,07 ^a	1,63 \pm 0,06 ^a
СО	0,25 \pm 0,02	0,31 \pm 0,04 ^b	0,55 \pm 0,04 ^c	0,28 \pm 0,03 ^c	0,37 \pm 0,05 ^b	0,29 \pm 0,03 ^b	0,31 \pm 0,03	0,44 \pm 0,05 ^b	0,27 \pm 0,04 ^b
ПИ	217,1 \pm 4,7	183,6 \pm 6,5 ^a	158,7 \pm 4,9 ^a	212,0 \pm 6,1 ^c	154,3 \pm 7,4 ^b	208,4 \pm 7,2 ^b	157,2 \pm 3,9	136,3 \pm 5,6 ^a	172,1 \pm 5,2 ^b
ОЛ	3,89 \pm 0,25	3,14 \pm 0,21 ^a	2,42 \pm 0,17 ^b	3,71 \pm 0,13	3,28 \pm 0,17 ^a	2,58 \pm 0,13 ^b	3,63 \pm 0,19	3,12 \pm 0,22 ^a	2,64 \pm 0,18 ^a

Примечание: ^a)- $p<0,05$ ^b)- $p<0,01$ ^c)- $p<0,001$ в сравнении с предыдущим этапом, концентрация ДК, мкмоль/мл, СО, мм³/мин, ПИ, мин/мл, ОЛ, мг/мл

Дополнение протокола стандартной терапии α -ТФ (2-я группа) приводит к более позитивным изменениям в системе ЛПО-АОЗ мембран эритроцитов (табл. 2), которые проявляются уже на 3-сутки и прогрессируют к 5-м суткам. Мембранотропный эффект α -ТФ в сочетании с компонентами нутритивного питания (например, лецитины, аскорбиновая кислота и др.) обеспечивает снижение СО (на 26,32% и 17,80%; $p<0,05$) на этапах исследования, при сопряженном повышении ПИ к 5-м суткам в сравнении с 1-ми. Выявленная динамика показателей СО и ПИ имеет противоположную направленность в отличие от

данных 1-й группы, что свидетельствуют о более стабилизирующей динамике показателей состояния системы ЛПО-АОЗ. Подтверждение этому мы находим и в динамике снижения ДК (17,95% и 32,14%; $p<0,05$) и ОЛ (на 21,35% и 23,56%; $p<0,05$) к 5-м суткам в группах сравнения, соответственно 1-я и 2-я. Отсутствие значимого клинического эффекта от использования α -ТФ в схеме лечения могло быть связано, как с вне сосудистым путем его введения, так и с недостаточным антиоксидантным потенциалом, необходимым для восстановления равновесия в системе "окисление - антиокисление" у больных тяжелыми формами АС. Можно также предположить, что при АС в условиях недостаточности жирорастворимых восстановителей (аскорбиновая кислота, флавоноиды, коэнзим Q) наступала быстрая инактивация α -ТФ [Меньщикова Е.Б., 2006] и антиоксидантных ферментов, в первую очередь, за счет модификации аминокислотных остатков активного центра фермента под влиянием активных кислородных метаболитов [Пасечник И.Н., 2001].

Дополнение стандартной терапии селеном (3-я группа) уже на 1-е сутки обеспечивало отчетливую направленность к достижению межсистемного равновесия, которое усиливалось к 5-м суткам антиоксидантной терапии: концентрация ДК и величина СО снижались на 47,13% и 54,76% ($p<0,01$) соответственно, ПИ увеличивался на 42,22% ($p<0,01$). Полученные результаты можно отнести к положительным прогностическим факторам в направлении благополучного исхода заболевания, подтверждением этому может быть и достоверное изменение содержания ОЛ на 5-е сутки в сравнение с 1-ми. Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение селена в интенсивной терапии АС оказывает антиоксидантное, иммунокорригирующее и противовоспалительное действие. Указанные изменения показателей ЛПО-АОЗ сопровождались снижением общей тяжести состояния пациентов 3-ей группы в 1,3 раза ($p<0,05$) - балл по SOFA $5,3\pm 2,1$ (исходный балл по SOFA $6,8\pm 2,6$). И, как следствие, уменьшением сроков пребывания в ОРИТ на 29,2% ($p<0,05$), снижением летальности на 26,42% ($p<0,05$) в сравнение с 1-ой группой (табл. 3).

Таблица 3

Оценка клинической эффективности лечения больных АС

Параметр	Ст. терапия (1 группа)	Ст. терапия + α -ТФ (2 группа)	Ст. терапия + селен (3 группа)
Нарушения в системе гемостаза (сутки)	$3,2\pm 0,8$	$2,5\pm 0,7$	$1,3\pm 0,6^b$
Койко-день в ОРИТ (сутки)	$9,7\pm 2,1$	$8,4\pm 3,1$	$6,7\pm 1,5^a$
Летальность, %	16,2	13,9	10,3 ^a

Примечание: ^a) - $p<0,05$ ^b) - $p<0,01$ в сравнении с 1-й группой

Исследование показателей АОЗ эритроцитов позволило уточнить и дополнить выявленные различия в эффективности интенсивной терапии в группах сравнения. Для эритроцитов характерна хорошо сбалансированная система АОЗ от окисления активными формами кислорода: большое количество каталазы и СОД, наличие глутатионредуктазной и глутатионпероксидазной систем,

антиокислительная активность самого гемоглобина. Однако, на фоне длительной и выраженной активации ЛПО у пациентов с тяжелым течением АС и развивающейся органной дисфункцией уже в 1-е сутки интенсивной терапии отмечена депрессия АОЗ (например, 1-ая группа): снижение активности SOD (на 64,63%; $p<0,001$), GSH-Px (на 35,06%; $p<0,01$) и каталазы (на 28,70%; $p<0,01$) в сравнение с донорами. На дисбаланс в системе ЛПО-АОЗ указывает снижение содержания α -ТФ в эритроцитах (1,5-1,6 раза; $p<0,001$), увеличение коэффициентов отношений ДК/SOD (в 4,2-5,3 раза; $p<0,001$), ДК/ α -ТФ (в 2,5-3,1 раза; $p<0,001$) в группах сравнения по отношению к показателям доноров.

На фоне стандартной терапии к 5-м суткам установлено снижение концентрации α -ТФ, недостоверное изменение активности GSH-Px и каталазы, при сопряженном повышении активности SOD в сравнение с 1-ми сутками (табл. 4).

Таблица 4

Динамика активности АОЗ в эритроцитах больных АС при стандартной терапии и дополненной α -ТФ или селеном ($M \pm m$)

Показатель	Эритроциты								
	Ст. терапия (1-я группа)			Ст. терапия + ТФ (2-я группа)			Ст. терапия + Селен (3-я группа)		
	1 сутки	3 сутки	5 сутки	1 сутки	3 сутки	5 сутки	1 сутки	3 сутки	5 сутки
СОД	431,17 $\pm 21,6$	551,5 $\pm 18,9^b$	631,17 $\pm 16,6^a$	458,82 $\pm 22,3$	523,47 $\pm 21,3^a$	678,35 $\pm 19,7^b$	428,6 $\pm 26,6$	577,8 $\pm 22,5^b$	998,6 $\pm 25,6^c$
GSH-Px	41,25 $\pm 0,4$	38,16 $\pm 0,5$	36,23 $\pm 0,5$	39,21 $\pm 0,4$	36,51 $\pm 0,5$	44,22 $\pm 0,5^b$	37,24 $\pm 0,4$	35,62 $\pm 0,4$	45,31 $\pm 0,5^b$
КАТ	18,17 $\pm 0,17$	18,64 $\pm 0,16$	19,32 $\pm 0,13$	18,16 $\pm 0,13$	18,51 $\pm 0,15$	19,96 $\pm 0,12$	19,14 $\pm 0,15$	19,42 $\pm 0,15$	22,54 $\pm 0,13^a$
α -ТФ	2,32 $\pm 0,14$	2,04 $\pm 0,15^a$	1,38 $\pm 0,13^b$	2,43 $\pm 0,13$	2,21 $\pm 0,15$	1,57 $\pm 0,14^b$	2,38 $\pm 0,14$	2,26 $\pm 0,16$	1,78 $\pm 0,14^a$
ДК/СОД	0,68 $\pm 0,03$	0,42 $\pm 0,02^b$	0,29 $\pm 0,01^b$	0,59 $\pm 0,03$	0,42 $\pm 0,04^b$	0,22 $\pm 0,04^c$	0,61 $\pm 0,03$	0,34 $\pm 0,03^b$	0,14 $\pm 0,02^c$

Примечание: ^{a)} - $p<0,05$ ^{b)} - $p<0,01$ ^{c)} - $p<0,001$ в сравнении с предыдущим этапом, СОД, усл.ед/мл р; GSH-Px, мкМ/мл эр.; Кат, мкМ/(мин · л); α -ТФ, мкМ/л; ДК/СОД, %

Корреляционный анализ тяжести состояния больных (1-я группа) по оценочным системам и показателей ЛПО-АОЗ показал картину дезадаптации (табл. 5). Выраженная отрицательная корреляционная зависимость на 3-и сутки заболевания была отмечена между показателями СО и ПИ ($r=-0,67$; $p<0,05$), ДК и SOD ($r=-0,85$; $p<0,05$). Особенно значима, на наш взгляд, корреляция показателей тяжести состояния больных (SAPS II) и оксидативного стресса: положительный вектор корреляции с уровнем ДК в 1-е сутки ($r=0,83$; $p<0,05$), ПИ ($r=0,84$; $p<0,05$); отрицательный вектор корреляции на 3-и сутки с показателем SOD ($r=-0,92$; $p<0,05$). Обращает внимание выраженная корреляционная зависимость между величиной ПИ ($r=0,69$; $p<0,05$), SOD ($r=-0,87$; $p<0,05$) со шкалой органной дисфункции SOFA, причем сила корреляционной зависимости возрастала к 5-м суткам. Следовательно, нарастание процессов ЛПО и депрессии АОЗ, несмотря на проводимую стандартную терапию, является неблагоприят-

ным прогностическим фактором уже на ранней стадии воспалительной реакции.

Таблица 5

Корреляционные взаимосвязи клинических параметров и показателей АОЗ в эритроцитах больных АС в условиях стандартной терапии

Коррелируемые параметры		Коэффициент корреляции Спирмена (r, при p < 0,05)
Клинические	ЛПО-АОЗ	
SAPS II	ДК, 1-е сутки	0,83
	ПИ, 1-е сутки	0,84
	SOD, 3-и сутки	-0,92
SOFA	ПИ, 5-е сутки	0,69
	SOD, 5-е сутки	-0,87
Койко-день в ОРИТ	ДК, 1-е сутки	0,83
	ПИ, 1-е сутки	0,81
	SOD, 3-и сутки	-0,83
Летальность	SOD, 1-е сутки	-0,69

Дополнение стандартной терапии α -ТФ у больных АС (2-я группа) способствовало повышению активности SOD (на 47,85%; $p < 0,001$) и GSH-Px (на 12,72%; $p < 0,05$) к 5-м суткам, но было недостаточным для устранения возникшего дисбаланса в эритроцитах (табл. 4). В условиях длительной и выраженной активации ЛПО наступает снижение концентрации антиоксидантов, за счет их высокой востребованности, на что указывает снижение содержания α -ТФ (на 35,59%; $p < 0,05$) и недостоверное изменение активности каталазы в сравнение с 1-ми сутками терапии. α -ТФ относится к активным компонентам АОЗ клетки, в связи с этим расходуется в первую очередь, что в целом способствует повышению активности антиоксидантных ферментов, но концентрация его недостаточна для стабилизации АОЗ организма. В результате не зарегистрировано значимого сокращения длительности системной воспалительной реакции, возникших функциональных расстройств и повышения выживаемости (табл. 3).

Наиболее благоприятный характер изменений в системе АОЗ эритроцитов выявлен у больных АС (3-я группа) в условиях терапии дополненной селеном (табл. 4). К пятым суткам пребывания в ОРИТ регистрировалось более значимое повышение активности ферментов SOD (в 2,33 раза; $p < 0,001$), GSH-Px (на 21,67%; $p < 0,05$) и каталазы (на 17,76%; $p < 0,05$), при дефиците α -ТФ (на 25,22%; $p < 0,05$). О более стабилизирующей динамике в системе ЛПО-АОЗ может свидетельствовать прогрессирующее уменьшение коэффициента ДК/ α -ТФ и недостоверное изменение отношения ДК/ SOD.

Включение экзогенных антиоксидантов в протокол интенсивной терапии больных АС повышает активность компонентов ферментативной АОЗ, что является положительным прогностическим фактором. При этом следует отметить более значимые позитивные сдвиги исследуемых показателей при включении в интенсивную терапию селена.

Динамика показателей системы ЛПО-АОЗ в плазме больных АС при стандартной терапии и дополненной антиоксидантами. Результаты исследования, характеризующие состояние системы ЛПО - АОЗ в плазме крови больных АС в условиях стандартной терапии (1-ая группа), не выявили существенных различий в динамике показателей в сравнение с эритроцитами (табл. 2). Диапазон изменения показателей свидетельствует о большей выраженности процесса ЛПО в плазме, что убедительно подтверждается величиной СО на этапах исследования, который прогрессирующе возрастает к 5-м суткам терапии в 2,2 раза ($p < 0,001$), при сопряженном более плавном снижении ПИ (на 26,27%; $p < 0,05$). Динамика показателя ДК не имеет различий в субстратах исследования. Указанные изменения протекают на фоне в 1,5-2,0 раза менее выраженного снижения содержания ОЛ в плазме в сравнение с эритроцитами. Значительно более высокая СО липидов в плазме в сравнение с эритроцитами обусловлена, вероятно, низкой активностью АОЗ, а также за счет окисления высоко ненасыщенных компонентов нутритивной поддержки, регулярно поступающих в кровь.

Дополнение стандартной терапии антиоксидантами (2-я и 3-я группа) обеспечивает снижение окислительного метаболизма липидов плазмы крови к 3-м суткам в сравнение с данными 1-й группы (табл. 2), выражающееся в меньшем диапазоне изменения СО (возрастает на 32,14% и 41,93%; $p < 0,05$) и ПИ (снижается на 27,36% и 13,19%; $p < 0,05$). Указанные изменения усиливаются к 5-м суткам, α -ТФ, а в большей степени селен, повышают активность метаболических процессов в плазме в направлении снижения СО липидов (на 21,63% и 38,64%; $p < 0,05$), повышения ПИ (на 35,06% и 26,47%; $p < 0,05$) и снижения ДК (на 21,40% и 18,09%; $p < 0,05$), что соответствует динамике показателей установленной для эритроцитов. В плазме определяется активность липолиза, прогрессирующая на этапах исследования в группах сравнения.

Результаты наших исследований выявили наибольшую эффективность α -ТФ и селена в коррекции нарушений в системе ЛПО-АОЗ мембранных липидах, чем в плазме.

Исследование окислительного метаболизма фосфолипидов и холестерина эритроцитов и плазмы крови в условиях стандартной терапии и дополненной антиоксидантами. Анализ данных окислительного метаболизма фосфолипидов, холестерина эритроцитов и плазмы крови больных АС свидетельствует о глубоких нарушениях в обмене липидов, динамика которых характеризуется разнонаправленным изменением фракций липидов и формированием детерминант синдрома гиперметаболизма (табл. 6). Исследование окислительного метаболизма липидов на этапах исследования является отражением возникшего дисбаланса в системе «липолиз-липогенез». Наиболее выраженный окислительный метаболизм липидов проявляется в эритроцитах при стандартной терапии (1-я группа).

Свидетельством усиления липолиза и торможения липогенеза является уменьшение содержания большинства фракций ФЛ и ХС в диапазоне значений от 12 до 42% ($p < 0,05$) на 3-и сутки в сравнение с 1-ми, указанная тенденция прогрессирует на 5-е сутки. О значительных мембранодеструктивных измене-

ниях в эритроцитах свидетельствует уменьшение легкоокисляемой фракции ФЛ (ФЭА+ФС) на 22,49% ($p<0,05$) и ОФЛ на 19,64% ($p<0,05$).

Таблица 6

Динамика содержания фракций ФЛ эритроцитов, плазмы крови больных АС при стандартной терапии и дополненной α -ТФ или селеном ($M \pm m$)

Показатель	Ст. терапия (1-я группа)			Ст. терапия + ТФ (2-я группа)			Ст. терапия + Селен (3-я группа)		
	1 сутки	3 сутки	5 сутки	1 сутки	3 сутки	5 сутки	1 сутки	3 сутки	5 сутки
Эритроциты									
ФЭА	0,152 \pm 0,001	0,122 \pm 0,002 ^a	0,109 \pm 0,003 ^a	0,142 \pm 0,001	0,152 \pm 0,002	0,213 \pm 0,001	0,139 \pm 0,001	0,166 \pm 0,002 ^a	0,343 \pm 0,001 ^c
ФС	0,134 \pm 0,002	0,114 \pm 0,002 ^a	0,091 \pm 0,001 ^a	0,116 \pm 0,001	0,133 \pm 0,002	0,174 \pm 0,002	0,106 \pm 0,001	0,089 \pm 0,002 ^a	0,056 \pm 0,002 ^c
ФХ	0,458 \pm 0,002	0,417 \pm 0,003	0,331 \pm 0,001 ^a	0,424 \pm 0,002	0,446 \pm 0,002	0,461 \pm 0,001	0,394 \pm 0,002	0,422 \pm 0,002	0,455 \pm 0,001
СФМ	0,440 \pm 0,001	0,386 \pm 0,001 ^a	0,418 \pm 0,002	0,432 \pm 0,001	0,439 \pm 0,001	0,497 \pm 0,001	0,381 \pm 0,001	0,415 \pm 0,001	0,498 \pm 0,001 ^a
ЛФХ	0,089 \pm 0,002	0,061 \pm 0,001 ^b	0,042 \pm 0,002 ^c	0,084 \pm 0,001	0,076 \pm 0,001	0,098 \pm 0,001	0,073 \pm 0,001	0,052 \pm 0,001 ^b	0,047 \pm 0,001 ^c
ОФЛ	1,273 \pm 0,001	1,130 \pm 0,001 ^a	1,023 \pm 0,002	1,153 \pm 0,002	1,246 \pm 0,002	1,443 \pm 0,002	1,153 \pm 0,002	1,124 \pm 0,002	1,379 \pm 0,002 ^b
Плазма									
ФЭА	0,217 \pm 0,002	0,228 \pm 0,001	0,263 \pm 0,001 ^a	0,214 \pm 0,002	0,261 \pm 0,002 ^b	0,325 \pm 0,001 ^c	0,223 \pm 0,002	0,289 \pm 0,002 ^b	0,428 \pm 0,001 ^c
ФС	0,194 \pm 0,001	0,210 \pm 0,001	0,293 \pm 0,002 ^b	0,212 \pm 0,001	0,163 \pm 0,001 ^b	0,114 \pm 0,001 ^b	0,226 \pm 0,001	0,172 \pm 0,001 ^b	0,122 \pm 0,001 ^b
ФХ	0,431 \pm 0,002	0,579 \pm 0,003 ^b	0,677 \pm 0,003 ^a	0,423 \pm 0,002	0,526 \pm 0,003 ^c	0,712 \pm 0,003 ^b	0,417 \pm 0,002	0,615 \pm 0,003 ^c	0,762 \pm 0,003 ^b
СФМ	0,661 \pm 0,002	0,723 \pm 0,003	0,883 \pm 0,003 ^b	0,585 \pm 0,002	0,651 \pm 0,002 ^b	0,835 \pm 0,001 ^c	0,527 \pm 0,002	0,649 \pm 0,002 ^b	0,943 \pm 0,001 ^c
ЛФХ	0,181 \pm 0,002	0,318 \pm 0,001 ^c	0,222 \pm 0,001 ^b	0,164 \pm 0,001	0,244 \pm 0,001 ^c	0,228 \pm 0,001 ^b	0,159 \pm 0,001	0,236 \pm 0,001 ^c	0,163 \pm 0,001 ^b
ОФЛ	1,684 \pm 0,001	2,058 \pm 0,002 ^b	2,338 \pm 0,002 ^a	1,598 \pm 0,002	1,845 \pm 0,002 ^b	2,214 \pm 0,002 ^b	1,552 \pm 0,002	1,961 \pm 0,002 ^b	2,418 \pm 0,002 ^b

Примечание: ^{a)} - $p<0,05$ ^{b)} - $p<0,01$ ^{c)} - $p<0,001$ в сравнении с предыдущим этапом, концентрация ФЛ и ХЛ (мкМ/мл)

Окислительный метаболизм липидов в плазме (1-я группа) характеризуется разнонаправленным изменением показателей (уменьшение или увеличение) на этапах исследования и в сравнении с эритроцитами (табл. 6). Так, например, снижение содержания практически всех фракций ФЛ в эритроцитах, сопровождается соответственно одновременным увеличением или недостоверным изменением в плазме. Указанное положение можно продемонстрировать динамикой содержания ФХ и ФЭА, для которых установлено снижение в эритроцитах

соответственно на 27,73% ($p<0,05$) и 28,31% ($p<0,05$), при сопряженном повышении в плазме, соответственно на 57,08% ($p<0,01$) и 21,18% ($p<0,05$) к 5-м суткам в сравнение с 1-ми. Прогрессирующий рост содержания ОФЛ (на 38,84%; $p<0,05$) и его фракций (на 21-57%, $p<0,05$) в плазме крови к 5-м суткам стандартной терапии, может свидетельствовать о нарастание процесса липогенеза и замедление мобилизации жиров из депо, восстановление структуры и функции гепатоцитов печени.

Общим направлением в динамике обмена липидов плазмы и эритроцитов у больных АС является прогрессирующее снижение ОХС (на 39,11% и 30,01%; $p<0,05$) и СХС (53,17% и 40,18%; $p<0,01$) соответственно к 5-м суткам в сравнение с 1-ми (табл. 7). Поскольку печень, является основным источником синтеза и регулятором уровня холестерина в крови, его низкий уровень характеризует снижение холестеролсинтезирующей функции печени в ответ на интоксикацию у больных АС. Дополнительным подтверждением этому может служить и снижение уровня ЭХС на 13,81% и 34,11% ($p<0,05$) в эритроцитах и плазме соответственно. Полученные результаты согласуются с данными, установленными в плазме крови у больных с распространенным перитонитом [Илюкевич Г.В., 2002].

Таблица 7

Динамика содержания фракций ХС эритроцитов и плазмы крови больных АС при стандартной терапии и дополненной α -ТФ или селеном ($M \pm m$)

Показатель	Ст. терапия			Ст. терапия + ТФ			Ст. терапия + Селен		
	1 сутки	3 сутки	5 сутки	1 сутки	3 сутки	5 сутки	1 сутки	3 сутки	5 сутки
Эритроциты									
СХС	2,260 \pm 0,021	1,443 \pm 0,015 ^c	1,352 \pm 0,012	2,461 \pm 0,019	1,976 \pm 0,018	2,185 \pm 0,015	2,713 \pm 0,019	1,824 \pm 0,018 ^c	1,241 \pm 0,015 ^c
ЭХС	1,340 \pm 0,012	1,772 \pm 0,011 ^b	1,155 \pm 0,009 ^c	1,432 \pm 0,009	1,751 \pm 0,012	1,674 \pm 0,011	1,230 \pm 0,009	1,640 \pm 0,012 ^c	1,273 \pm 0,011 ^b
ОХС	3,581 \pm 0,020	3,215 \pm 0,019	2,507 \pm 0,018 ^a	3,893 \pm 0,014	3,727 \pm 0,019	3,859 \pm 0,021	3,943 \pm 0,023	3,464 \pm 0,019 ^a	2,514 \pm 0,021 ^b
Плазма									
СХС	2,103 \pm 0,019	1,262 \pm 0,021 ^c	0,985 \pm 0,017 ^b	2,192 \pm 0,011	1,982 \pm 0,013 ^a	1,864 \pm 0,009	2,21 \pm 0,011	1,923 \pm 0,013 ^a	1,776 \pm 0,009
ЭХС	5,905 \pm 0,016	4,133 \pm 0,019 ^b	3,891 \pm 0,018	5,561 \pm 0,009	5,621 \pm 0,015	5,714 \pm 0,018	5,377 \pm 0,009	5,690 \pm 0,015	6,044 \pm 0,018
ОХС	8,008 \pm 0,022	5,395 \pm 0,021 ^b	4,876 \pm 0,019	7,753 \pm 0,016	7,603 \pm 0,015	7,578 \pm 0,021	7,578 \pm 0,016	7,613 \pm 0,015	8,020 \pm 0,021

Примечание: ^{a)} - $p<0,05$ ^{b)} - $p<0,01$ ^{c)} - $p<0,001$ в сравнении с предыдущим этапом, концентрация ХС и ЭХС (мкМ/мл)

На восстановление структуры и функции мембран, повышение активности гепатоцитов печени, как положительный результат проводимой стандартной терапии у больных АС к 5-м суткам указывает снижение коэффициента ФЭА/ФХ на 22,87% ($p<0,05$) в плазме; повышение коэффициента отношения ФХ/СХС и ФЭА/СХС в эритроцитах, соответственно на 13,56% ($p<0,05$) и 20,89% ($p<0,05$), в плазме - в 3,57 раз ($p<0,001$) и 2,59 раз ($p<0,001$), а также

ЭХ/СХС на 73,62% ($p<0,05$) и 40,67% ($p<0,05$) в сравнении с 1-ми сутками (табл. 8). Положительным прогностическим фактором интенсивной терапии больных АС является снижение содержания ЛФХ ($\sim 30\%$, $p<0,05$) в эритроцитах и плазме на 5-е сутки терапии, что указывает на подавление активности фосфолипазы A_2 . Известно, что ЛФХ являются эффективными эмульгаторами липопротеидов. С другой стороны, уменьшение концентрации ЛФХ может свидетельствовать о недостаточной активации процесса липогенеза в гепатоцитах в условиях стандартной терапии больных АС, так как ЛФХ является промежуточным звеном в синтезе ФХ. О незаконченности процесса восстановления функции гепатоцитов свидетельствует повышение коэффициента ФЭА/ФХ на 20,21 % ($p<0,05$) в эритроцитах, при сопряженном снижении содержания его составляющих.

Таблица 8

Динамика коэффициентов отношений фракций ФЛ и ХС эритроцитов и плазмы крови больных АС при стандартной терапии и дополненной α -ТФ или селеном ($M \pm m$)

Показатель	Ст. терапия (1-я группа)			Ст. терапия + ТФ (2-я группа)			Ст. терапия + Селен (3-я группа)		
	1 сутки	3 сутки	5 сутки	1 сутки	3 сутки	5 сутки	1 сутки	3 сутки	5 сутки
Эритроциты									
ОХС/ ОФЛ	2,81 \pm 0,021	2,84 \pm 0,016	2,45 \pm 0,013 ^a	3,376 \pm 0,019	2,991 \pm 0,017 ^a	2,674 \pm 0,015	3,42 \pm 0,019	3,00 \pm 0,023 ^a	1,82 \pm 0,021 ^b
ФЭА/ ФХ	0,273 \pm 0,001	0,292 \pm 0,001	0,329 \pm 0,001 ^a	0,335 \pm 0,001	0,341 \pm 0,002	0,462 \pm 0,001 ^b	0,353 \pm 0,002	0,393 \pm 0,001 ^a	0,754 \pm 0,001 ^c
ФХ/ СХС	0,059 \pm 0,001	0,079 \pm 0,002 ^c	0,067 \pm 0,002 ^a	0,172 \pm 0,002	0,225 \pm 0,001 ^b	0,211 \pm 0,002 ^a	0,039 \pm 0,001	0,049 \pm 0,001 ^a	0,045 \pm 0,001
ФЭА/ СХС	0,067 \pm 0,002	0,084 \pm 0,001 ^b	0,081 \pm 0,002	0,057 \pm 0,001	0,076 \pm 0,001 ^b	0,097 \pm 0,002 ^b	0,051 \pm 0,002	0,091 \pm 0,001 ^c	0,276 \pm 0,002 ^c
ЭХС/ СХС	0,591 \pm 0,002	1,228 \pm 0,002 ^c	1,026 \pm 0,001 ^a	0,582 \pm 0,001	0,886 \pm 0,002 ^c	0,766 \pm 0,001 ^a	0,453 \pm 0,002	0,899 \pm 0,002 ^c	1,026 \pm 0,003 ^a
Плазма									
ОХС/ ОФЛ	4,75 \pm 0,013	2,62 \pm 0,016 ^c	2,08 \pm 0,021 ^b	4,852 \pm 0,019	4,121 \pm 0,017 ^a	3,422 \pm 0,017 ^a	4,88 \pm 0,019	3,88 \pm 0,018 ^b	3,517 \pm 0,021
ФЭА/ ФХ	0,503 \pm 0,002	0,394 \pm 0,003 ^a	0,388 \pm 0,002	0,506 \pm 0,002	0,496 \pm 0,001	0,456 \pm 0,002	0,535 \pm 0,002	0,469 \pm 0,001 ^a	0,562 \pm 0,002 ^a
ФХ/ СХС	0,205 \pm 0,001	0,458 \pm 0,002 ^c	0,732 \pm 0,002 ^c	0,193 \pm 0,001	0,265 \pm 0,002 ^b	0,382 \pm 0,002 ^b	0,189 \pm 0,001	0,404 \pm 0,002 ^c	0,406 \pm 0,002
ФЭА/ СХС	0,103 \pm 0,002	0,181 \pm 0,002 ^c	0,267 \pm 0,001 ^c	0,038 \pm 0,002	0,046 \pm 0,002 ^a	0,056 \pm 0,002 ^a	0,112 \pm 0,002	0,151 \pm 0,002 ^b	0,243 \pm 0,001 ^c
ЭХС/ СХС	2,808 \pm 0,011	3,275 \pm 0,013 ^a	3,950 \pm 0,009 ^a	2,537 \pm 0,012	2,836 \pm 0,017 ^a	3,065 \pm 0,013	2,432 \pm 0,011	2,959 \pm 0,012 ^b	3,515 \pm 0,011 ^a

Примечание: ^a) - $p<0,05$ ^b) - $p<0,01$ ^c) - $p<0,001$ в сравнении с предыдущим этапом

Полученные данные указывают на сохраняющуюся потребность в энергетических субстратах на фоне окончательно не купированной системной воспалительной реакции.

Дополнение интенсивной терапии α -ТФ (2-я группа) оказывает более благоприятный мембранотропный эффект в эритроцитах, проявляющийся в увеличение большинства фракций ФЛ, указанный процесс усиливается к 5-м суткам терапии в диапазоне значений от 16 до 50% ($p < 0,05$) в сравнение с 1-ми (табл. 6). О снижении интенсивности окислительного метаболизма липидов в эритроцитах может свидетельствовать повышение суммы высоко ненасыщенных фракций ФЛ (ФЭА+ФС) на 50,01% ($p < 0,01$) и ЭХС на 16,89% ($p < 0,05$), при сопряженном снижении ОХС и СХС (табл. 7). Известно, что в структуре ФЭА и ФС глицерол этерифицирован преимущественно семейством ω -3 полиеновых жирных кислот и эфиры ХС содержат главным образом полиеновые жирные кислоты [Титов В.Н., 2001].

Мембранотропный эффект α -ТФ, установленный в эритроцитах сохраняется и в плазме, но в более высоком диапазоне значений (увеличение в 2-3 раза; $p < 0,01$) ФХ, СФМ, ЛФХ и содержания ОФЛ к 5-м суткам в сравнение с 1-ми (табл. 6). Отличительной особенностью обмена ФЛ в плазме является значительное снижение содержания ФС (на 46,23%; $p < 0,01$). ФС, аналогично другим группам фосфолипидов, являются структурными компонентами клеточных мембран. Однако, в наибольшей степени ФС сосредоточены в клеточных и субклеточных мембранах мозга. Это обусловлено тем, что фосфатидилсерины принимают активное участие в разнообразных функциях нервных клеток, включая их синаптическую активность [Кунц Э., 1994]. Указанный факт свидетельствует о повышении ассимиляции нервными клетками ФС, что способствует интенсификации их функциональной активности у больных АС.

Эффективность α -ТФ в коррекции нарушений в системе «липолиз-липогенез» подтверждается динамикой коэффициентов отношений фракций фосфолипидов (табл. 8) соответственно в эритроцитах и плазме: ОХС/ОФЛ (уменьшение на 20-30%, $p < 0,05$), ЭХС/СХ и ФЭА/СХС (увеличение на 40-70% и 20-30%; $p < 0,01$). Указанные изменения протекают на фоне недостоверных различий в содержание ОХС на этапах исследования (табл. 7).

Закономерности окислительного метаболизма липидов под влиянием селена (3-я группа), обнаруженные в эритроцитах, сохраняются и в плазме, но в большем (в 2-6 раз, $p < 0,001$) диапазоне концентраций в сторону увеличения для отдельных фракций к 5-м суткам в сравнение с 1-ми (табл. 6). При этом, не получено существенных различий в динамике содержания ОХС и его эфиров (табл. 7). Обращает на себя факт повышения содержания ФЭА в эритроцитах и плазме (в 2,47 раз и 1,92 раза; $p < 0,001$), обладающей высокой тромбопластической активностью, который в условиях гипоксии приводит к разрушению мембраны и, как следствие, усилению тромбоногенеза, что может усиливать образование эритроцитарных агрегатов в микрососудистом русле. С другой стороны, в состав фракции ФЭА входят высоконенасыщенные жирные кислоты, повышение их содержания может способствовать нормализации воспалительной реакции у больных, находящихся в критическом состоянии. Так как омега-3 жирные кислоты обладают гипOLIПИДИЧЕСКИМ эффектом, оказывают противовоспалительное и иммуномодулирующее действие [Цветков Д.С., 2008].

В эритроцитах в условиях терапии с селеном установлено повышение содержания ФХ (на 15,48%; $p < 0,05$), в отличие от 2-й группы, где не получено достоверных различий. Повышение количества ФХ в мембране эритроцита, способствует снижению коагуляционной активности клетки. Одновременно в плазме крови больных 2-й и 3-й группы обнаружено прогрессирующее повышение содержания ФХ (на 68,32% и 82,73%; $p < 0,001$) к 5-м суткам в сравнение с 1-ми. По данным ряда исследований именно фосфатидилхолиновая фракция является наиболее ценной и играет главенствующую роль в коррекции и стабилизации процессов межклеточного обмена [Кунц Э., 1994].

На восстановление структуры и функции мембран, повышение активности гепатоцитов печени, как положительный результат интенсивной терапии дополненной селеном у больных АС указывает прогрессирующее повышение в эритроцитах суммы ФЛ, как внешнего монослоя (ФХ+СФМ), так и внутреннего (ФС+ФЭА), на 22,97 и 54,69% ($p < 0,05$) к 5-м суткам в сравнение с 1-ми. Указанная динамика сохраняется и в плазме, но с большей выраженностью для фракции ФХ+СФМ (увеличение в 1,83 раза; $p < 0,001$).

На фоне проводимой интенсивной терапии дополненной селеном к 5-ым суткам установлена положительная динамика холестеролсинтезирующей функции печени, на что указывает повышение в эритроцитах и плазме коэффициентов: ФХ/СХС (на 15,38% и в 2,15 раз), ФЭА/СХС (в 2,13 раза и 2,18 раз), ЭХ/СХС (в 2,26 раз и на 44,52%), ФЭА/ФХ (в 2,13 раз и недостоверно) в сравнении с 1-ми сутками (табл. 9). Уменьшение коэффициента ОХС/ОФЛ (на 46,79 и 27,24%; $p < 0,01$) однозначно свидетельствует о снижении активности свободнорадикальных процессов в липидах эритроцитов и плазмы крови.

Как показали наши исследования, окислительный стресс и активация фосфолипаз являются одним из ведущих механизмов метаболизма мембранных и плазматических липидов. Дополнение антиоксидантами (α -ТФ и селеном) стандартной терапии больных АС оказывает корригирующее влияние на состояние системы ЛПО-АОЗ и усиливает мембранотропный эффект в мембранных и плазматических липидах крови, что позволяет рекомендовать их включение в комплексную интенсивную терапию больных АС.

Показатели окислительного стресса могут быть использованы в процессе диагностики сепсиса, а также в процессе проведения интенсивной терапии и выбора ее составляющих. Диагностическая и прогностическая значимость показателей окислительного стресса может определяться во взаимосвязи с клиническими характеристиками тяжести абдоминального сепсиса.

ВЫВОДЫ

1. Больные абдоминальным сепсисом в отличие от здоровых доноров характеризуются высокой активностью процесса липидпероксидации в эритроцитах и плазме крови, что подтверждается высоким содержанием диеновых конъюгатов (в 1,5-1,7 раза), увеличением периода индукции (в 6,2-7,8 раза), снижением скорости окисления и содержания общих липидов (на 65-72% и 25-37%, соответственно). Стандартная интенсивная терапия не обеспечивает нормализации показателей липидпероксидации.

2. Активность ферментативного звена системы антиоксидантной защиты эритроцитов супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, каталазы у больных абдоминальным сепсисом снижена на 64,6%; 35,1%; 28,7% в сравнение со здоровыми донорами. Установлено уменьшение содержания альфа-токоферола в эритроцитах на 35,4%. Активность ферментов к 5-м суткам стандартной интенсивной терапии повышается, не достигая при этом уровня здоровых доноров. Дефицит альфа-токоферола при этом сохраняется.
3. Дополнение стандартной интенсивной терапии альфа-токоферолом (в дозе 600 мг/сутки) оказывает стабилизирующее воздействие на показатели липидпероксидации и антиоксидантной защиты, но не нормализуют их.
4. Дополнение стандартной интенсивной терапии селеном (в дозе 300 мг/сутки) в большей степени стабилизирует показатели липидпероксидации и антиоксидантной защиты, восстанавливает холестерол-синтезирующую функцию печени, повышая в эритроцитах и плазме значения коэффициентов к 5-м суткам: ФХ/СХС (на 15,38% и в 2,15 раз), ФЭА/СХС (в 2,13 и 2,18 раз), ЭХ/СХС (в 2,26 раз и на 44,52%), ФЭА/ФХ (в 2,13 раз и недостоверно) в сравнение с 1-ми сутками.
5. Сравнительный анализ окислительной стабильности мембранных и плазматических липидов у больных абдоминальным сепсисом показал, что вне зависимости от протокола интенсивной терапии стабилизирующие изменения в большей степени характерны для липидов эритроцитов, затем плазмы.
6. Включение селена в стандартную интенсивную терапию больных абдоминальным сепсисом позволило снизить летальность на 6% и на 3-е суток сократить пребывание пациента в отделение реанимации и интенсивной терапии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Результаты исследования обращают внимание практикующих врачей на возможность ограничивать сдвиги в системе ЛПО-АОЗ путем включения антиоксидантов в протокол стандартной интенсивной терапии у больных с тяжелыми формами абдоминального сепсиса.
2. Полученные результаты исследования позволяют рекомендовать определение показателей системы ЛПО-АОЗ для динамического контроля развития патологического процесса и эффективности проводимой комплексной интенсивной терапии у больных абдоминальным сепсисом.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кадочникова Т.Ю. Влияние селена на окислительный метаболизм липидов эритроцитов и плазмы крови в терапии больных абдоминальным сепсисом / **Т.Ю. Кадочникова**, С.Л. Галян // Вестник Тюменского государственного университета - 2011. - № 5. – С. 176-182. (перечень ВАК)-автора-0,438пл
2. Мухачева С.Ю. Эффективность селена и альфа – токоферола в терапии больных с абдоминальным сепсисом / С.Ю. Мухачева, В.А. Руднов, С.Л. Галян, **Т.Ю. Кадочникова** // Инфекции в хирургии -2007.-т.5.-№1.-С.33-37. (перечень ВАК)-автора-0,313пл

3. Попов В.Г. Эффективность применения комплекса фармаконутриентов при лечении больных сепсисом / В.Г. Попов, **Т.Ю. Ильиных**, С.Л. Галян и др. // Товаровед продовольственных товаров- 2011. -№8.- С. 16-21.-автора-0,438пл
4. Попов В.Г. Эффективность влияния питательных смесей, обогащенных витамином Е на окислительный метаболизм липидов / В.Г. Попов, **Т.Ю. Ильиных**, С.Л. Галян и др. // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов - 2011.- №4.-С.15-20. -автора-0,375пл
5. Галян С.Л. Использование селена в комплексной терапии послеоперационных больных с септическими осложнениями / С.Л. Галян, **Т.Ю. Кадочникова**, С. Ю. Мухачева и др. // Материалы V съезда ассоциации анестезиологов-реаниматологов северо-запада России, Санкт-Петербург. - Эфферентная терапия - 2009.-т.15.-№1-2. – С.30-32. -автора-0,188пл
6. Ильиных Т.Ю. Возможности коррекции оксидативного стресса у больных в критическом состоянии // **Т.Ю. Ильиных**, С.Л. Галян, А.В. Финкель и др. // Материалы VI съезда ассоциации анестезиологов-реаниматологов северо-запада России, Санкт-Петербург.- Эфферентная терапия - 2011.-Т. 17. - № 3.- С. 37 – 39. -автора-0,188пл
7. Кадочникова Т.Ю. Оценка эффективности альфа-токоферола и селена в комплексной терапии больных сепсисом / **Т.Ю. Кадочникова**, С.Л. Галян, Б.Н. Бекетов // Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы клиники, диагностики и лечения в многопрофильном лечебном учреждении», Санкт – Петербург. - Вестник Российской военно-медицинской академии - 2009.-С.893-894. -автора-0,125пл
8. Кадочникова Т.Ю. О необходимости антиоксидантной терапии у больных абдоминальным сепсисом / **Т.Ю. Кадочникова**, С.Л. Галян, С.Ю. Мухачева // Материалы X Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы клиники, диагностики и лечения в многопрофильном лечебном учреждении», Санкт-Петербург. - Вестник Российской военно-медицинской академии - 2011.-С.425-426. -автора-0,125пл
9. Галян С.Л. Использование селена в комплексной терапии больных с септическими осложнениями / С.Л. Галян, **Т.Ю. Кадочникова**, С. Ю. Мухачева и др. // Материалы конгресса терапевтов «Урал-2009», Тюмень, 2009.-С.39. - автора-0,063пл
- 10.Ильиных Т.Ю. Применение питательных смесей, обогащенных антиоксидантами, в терапии больных в критическом состоянии / **Т.Ю. Ильиных**, Г.Д. Кадочникова // Региональный рынок потребительских товаров: особенности и перспективы развития, формирование, конкуренция, качество и безопасность товаров и услуг // Материалы IV Всероссийской научно-практической конференции ученых и аспирантов вузов, Тюмень, 2011. - С. 131-133. - автора-0,188пл
- 11.Галян С.Л. Особенности влияния альфа – токоферола на окислительный метаболизм липидов крови при хирургических вмешательствах / С.Л. Галян, **Т.Ю. Кадочникова**, С.Ю. Мухачева // Материалы 3-й Всероссийской научно-методической конференции «Интеграция науки и образовательного про-

- цесса. Создание новых физиологически активных веществ», Воронеж, 2007.-С.99-101. -автора-0,188пл
12. Мухачева С.Ю. Состояние процессов липидпероксидации и антиоксидантной активности на фоне применения N-ацетилцистеина у больных сепсисом, осложненным респираторной дисфункцией / С.Ю. Мухачева, **Т.Ю. Кадочникова**, Л.Л. Косухина // Материалы 40-й Всероссийской конференции с международным участием студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы теоретической, экспериментальной и клинической медицины», Тюмень, 2006.-С.73. -автора-0,063пл
13. Кадочникова Т.Ю. Динамика изменений интенсивности пероксидного окисления липидов и активности антиоксидантных ферментов при уросепсисе осложненным септическим шоком / **Т.Ю. Кадочникова**, С.Ю. Мухачева, Л.Л. Косухина // Материалы 41-й Всероссийской конференции с международным участием студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы теоретической, экспериментальной и клинической медицины», Тюмень, 2007.-С.122. -автора-0,063пл
14. **Кадочникова Т.Ю.** Изучение эффективности эндогенных антиоксидантов в комплексной терапии сепсиса по результатам биохимического анализа крови / **Т.Ю. Кадочникова**, И.М. Моисеева, Л.Л. Косухина // Материалы 42-й Всероссийской конференции с международным участием студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы теоретической, экспериментальной, клинической медицины и фармации», Тюмень, 2008.-С.36-37. -автора-0,125пл
15. Галян С.Л. К вопросу о необходимости применения эндогенных антиоксидантов в интенсивной терапии сепсиса / С.Л. Галян, **Т.Ю. Кадочникова**, С.Ю. Мухачева, М.К. Умутбаева // Материалы межрегиональной научно – практической конференции // «Актуальные проблемы фармацевтической помощи в современных условиях», Тюмень, 2008.-С.124-126. -автора-0,188пл
16. Кадочникова Т.Ю. Лечение больных сепсисом с применением антиоксидантной терапии / **Т.Ю. Кадочникова**, Л.И. Вирста, А.А. Мишакина // Материалы 45-й Всероссийской конференции с международным участием студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы теоретической, экспериментальной, клинической медицины и фармации», Тюмень, 2011.-С.34. -автора-0,063пл
17. Кадочникова Т.Ю. Эффективность α -токоферола и селена в комплексной терапии больных с сепсисом / **Т.Ю. Кадочникова**, Б.Н. Бекетов, С.Л. Галян // Материалы региональной научно-практической конференции «Фармация и общественное здоровье», Екатеринбург, 2009.- С.112-114. -автора-0,188пл
18. Кадочникова Т.Ю. Состояние липидпероксидации и метаболизма липидов эритроцитов в комплексной терапии больных абдоминальным сепсисом / **Т.Ю. Кадочникова**, С. Ю. Мухачева, С. Л. Галян // Глава в монографии С.Л. Галян, Г.Д. Кадочникова, Т.Д. Журавлева. Окислительный метаболизм липидов крови при критических состояниях. Тюмень: ООО «Печатник», 2010.- С. 54-60. -автора-0,438пл

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АОЗ	- антиоксидантная защита	ЛПО	- липидпероксидация
АС	- абдоминальный сепсис	ДК	- диеновые конъюгаты
ОЛ	- общие липиды	СО	- скорость окисления
ПИ	- период индукции	SOD	- супероксиддисмутаза
GSH-Px	- глутатионпероксидаза	α -ТФ	- альфа-токоферол
ОФЛ	- общие фосфолипиды	ФЛ	- фосфолипиды
ЛФХ	- лизофосфатидилхолин	ФС	- фосфатидилсерин
ФЭА	- фосфатидилэтаноламин	ФХ	- фосфатидилхолин
ОХС	- общий холестерол	СХС	- свободный холестерол
ОРИТ	- отделение реанимации и интенсивной терапии		

Просьба высылать отзывы на автореферат по адресу:
4280008, Казань, ул. Кремлевская 18, Казанский (Приволжский) федеральный
университет, отдел аспирантуры, Ученому секретарю Диссертационного совета
Д 212.081.08 проф. Абрамовой З.И., факс: (843)238-76-01
E-mail: attestat.otdel@ksu.ru

ИЛЬИНЫХ ТАТЬЯНА ЮРЬЕВНА

**СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЛИЯНИЯ
СЕЛЕНА И АЛЬФА - ТОКОФЕРОЛА
НА СОСТОЯНИЕ ЛИПИДПЕРОКСИДАЦИИ КРОВИ
В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ
АБДОМИНАЛЬНЫМ СЕПСИСОМ**

03.01.04 – биохимия

Автореферат
диссертации на соискание ученой
степени кандидата биологических наук

Подписано в печать 26.04.12
Формат 60x84/16. Печ. л. 1,0. Печать ризограф.
Тираж 100. Зак. №

Типография ООО «Печатник», лицензия ПД № 17-0027
Тюмень, ул. Республики, 148 корп. 1/2.
Тел. (3452) 20-51-13, тел./факс (3452) 32-13-86

